

## Beschichtungssystem für Implantate zur Erhöhung der Gewebsverträglichkeit

Die Erfindung betrifft ein Beschichtungssystem zur Erhöhung der Gewebsverträglichkeit für Implantate, die einen metallischen Grundkörper besitzen.

- 5    Implantate mit einem metallischen Grundkörpern zum dauerhaften oder zumindest mittelfristigen Verbleib im menschlichen oder tierischen Körper führen bekanntermaßen zu Abstoßungsreaktionen im Körper, die die Funktionalität des Implantats und den Heilungserfolg der Therapie mindern. Dieses Problem stellt sich insbesondere bei Stents und
- 10   Elektroden zur Stimulation von Körpergewebe. Es ist daher bekannt, Beschichtungssysteme auf dem Implantat aufzubringen, die die Gefäßverträglichkeit erhöhen und damit die Gefahr von Abstoßungsreaktionen unterschiedlichster Ausprägung mindern. Teils weisen die metallischen Grundkörper Zwischenschichten auf, die
- 15   korrosive Prozesse mindern, als auch die Gewebsverträglichkeit

verbessern sollen. Ein Beispiel sind Zwischenbeschichtungen aus amorphem Siliziumkarbid.

5 Polysaccharide sind als biokompatibel bekannt. Typische Vertreter dieser Substanzklasse sind Heparin, Alginat, Chitosan oder Hyaluronsäure. Die letzteren beiden haben sich zum einen als sehr körperverträglich erwiesen, zum anderen sind Beschichtungen aus diesen Komponenten hydrophil und folglich sind die damit versehenen Geräte gut implantierbar.

10

Mit Polysacchariden im allgemeinen und Hyaluronsäure im speziellen beschichtete Implantate und Verfahren zu deren Beschichtung mit Hyaluronsäure sind aus dem Stand der Technik zahlreich bekannt. So offenbart die US 6,042,876 A einen Führungsdräht für Implantierungs-15 zwecke, der mit einem solchen hydrophilen Polysaccharid, wie Hyaluron-säure oder Chondroitinsulfat beschichtet ist.

20 Die US-A-4,957,744 bezieht sich auf vernetzte Ester von Hyaluronsäure, die für verschiedenste medizinische und kosmetische Artikel sowie pharmazeutische Zusammensetzungen verwendet werden. Die vernetzten Ester resultieren aus der Veresterung von mehrwertigen Alkoholen mit zwei oder mehr Carboxy-Gruppen der Hyaluronsäure. Solche vernetzten Ester sind besonders auf dem Gebiet bioresorbierbarer Kunststoffe für medizinische und chirurgische Artikel verwendbar.

25

Aus der DE 196 30 563 ist eine implantierbare Stimulationselektrode bekannt, die eine erhöhte Gewebsverträglichkeit zeigt. Dies wird dadurch erreicht, dass eine im wesentlichen die gesamte äußere Oberfläche der Stimulationselektrode bildende, dünne, spezifisch 30 funktionalisierte organische Beschichtung vorgesehen ist, die auf Grund irreversibler Physisorption oder kovalenter Bindung an der darunter liegenden Oberfläche fest haftet. Als Beschichtungsmaterialien werden u.a. Silane und synthetische Polymere wie Polystyrensulfonat,

Polyvinylsulfonat oder Polyallylamin vorgeschlagen. Die organische Beschichtung kann auch mehrschichtig sein, wobei an der äußenen Oberfläche insbesondere Polyethylenoxid oder Polyethylenglycol terminiert ist. Ferner wird angesprochen, dass die organische Schicht einen medizinischen Wirkstoff, insbesondere ein entzündungshemmendes Medikament beinhaltet, der aus der organischen Beschichtung diffusions- oder lösungsgesteuert austragbar ist.

10 Die geschilderten Verbesserungen durch die Beschichtung der Stimulationselektrode führen zwar bereits zu einer deutlichen Minderung der temporären Reizschwellenerhöhung, sind aber relativ aufwendig und damit kostspielig in der Umsetzung und fordern wegen der synthetischen Natur der verwendeten Materialien umfangreiche Tests

15 zur Evaluierung der Biokompatibilität. Weiterhin ist es im Falle des gewünschten Zusatzes von entzündungshemmenden Wirkstoffen notwendig, die Materialeigenschaften der Wirkstoffe und der sie einbettenden organischen Beschichtung durch umfangreiche Tests aufeinander abzustimmen.

20

Schließlich bezieht sich die WO 8802623 A1 auf Biomaterialien mit biokompatibler Oberfläche, wobei unter einer Vielzahl von Ausgangsmaterialien und Bindungsmechanismen unter anderem die Verwendung von Hyaluronsäure zur Herstellung einer biokompatiblen

25 Kontaktlinse offenbart wird.

Sofern die vorgenannten Druckschriften Beschichtungssysteme für medizinische Gerätschaften und insbesondere Stents und Stimulationselektroden betreffen, weisen diese den Nachteil auf, dass die erzielten Beschichtungen keine ausreichenden Haftfestigkeiten auf der Substratoberfläche erzielen, die Beschichtungen die feinen Strukturen der Implantate nur ungleichmäßig bedecken und deren Aufbringung technisch sehr aufwendig ist.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein Beschichtungssystem für Implantate bereitzustellen, das die vorgenannten Nachteile des Standes der Technik überwindet. Das Beschichtungssystem soll insbesondere eine sehr hohe Biokompatibilität besitzen und zudem von sich aus entzündungshemmend wirken. Ferner soll das Beschichtungssystem aus möglichst wenig und leicht verarbeitbaren Komponenten bestehen, so dass die Herstellung vereinfacht wird.

5 10 Diese Aufgabe wird durch die erfindungsgemäße Beschichtungssystem nach Anspruch 1 gelöst.

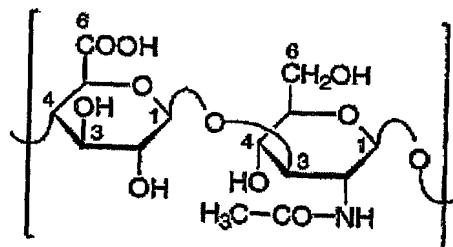
Die mit dem erfindungsgemäßen Beschichtungssystem bedeckten Implantate weisen eine durch Physisorption und/oder kovalente Bindung gebundene Beschichtung auf. Die Beschichtung bedeckt den metallischen Grundkörper und gegebenenfalls eine oder mehrere auf dem Grundkörper aufgebrachte Zwischenschichten. Die Beschichtung umfasst eine Polysaccharidschicht aus

15 20 (a) Chitosan und  
(b) Hyaluronsäure und/oder Hyaluronsäure-Derivaten.

Es hat sich überraschenderweise gezeigt, dass die Aufbringung einer solchen Polysaccharidschicht zu einer wesentlichen Verbesserung der Gewebsverträglichkeit beiträgt. Ferner zeichnen sich Hyaluronsäure, 25 seine Derivate und Chitosan durch ihre sehr gute Biokompatibilität aus, da die Materialien natürlichem Ursprungs sind. Weiterhin hat es sich gezeigt, dass zumindest Hyaluronsäure als auch seine Derivate eine eigenständige entzündungshemmende Wirkung besitzen und damit 30 wirkungsvoll Gewebsirritationen verhindert oder zumindest stark vermindert werden können.

Hyaluronsäure (Hyaluronan) ist ein einfaches Glykosaminoglykan der extrazellulären Matrix. Es wird an der Oberfläche von Fibroblasten synthetisiert und kommt als einziges Glykosaminoglykan nicht als Proteoglykan vor. Hyaluronsäure ist eine hochmolekulare Verbindung mit  $M_R$  zwischen 50.000 und mehreren Millionen. Grundbaustein der Hyaluronsäure ist ein aus D-Glucuronsäure und N-Acetyl-d-glucosamin in  $\beta$ 1-3-glykosidischer Bindung aufgebautes Aminodisaccharid, das mit der nächsten Einheit  $\beta$ 1-4-glykosidisch verbunden ist:

10



Die unverzweigte Kette der Hyaluronsäure besteht aus 2.000–10.000 solcher Einheiten. Durch Hyaluronidasen werden  $\beta$ -glykosidische Bindungen hydrolysiert und so die Hyaluronsäure zu kleineren Bruchstücken abgebaut. Die – meist als Kalium-Salz – im Handel befindliche Hyaluronsäure ist aus menschlichen Nabelschnüren oder Hahnenkämmen isoliert, wird aber zunehmend biotechnologisch durch bakterielle Fermentation hergestellt.

20 Zur Modifizierung von Hyaluronsäure, d.h. Darstellung von Hyaluronsäure-Derivaten, werden literaturbekannte Verfahren eingesetzt (z. B. Danishefsky, Arch. Biochem. Biophys., 90, 1960, S. 114 ff.; Nagasawa, Carbohydr. Res., 58, 1977, S. 47 ff.; Ayotte, Carbohydr. Res. 145, 1986, S. 267 ff.; Ogamo, Carbohydr. Res. 193, 1989, S. 165 ff.; Jesaja, Can. J. Chem.; 67, 1989, S. 1449 ff.; Mulloy, Carbohydr. Res. 255, 1994, S. 1 ff.). Dabei handelt es sich um regio- und stereoselektive und nicht regio- und stereoselektive (statische) Reaktionen. Basierend auf diesem Verfahren kann Hyaluronsäure insbesondere durch N- und

O-Desulfatierung, O-Desulfatierung, 6-O-Desulfatierung, Deacetylierung oder Acetylierung sowie Sulfatierung, Acylierung mit aliphatischen oder aromatischem Rest verändert werden. Insbesondere können durch die bekannten Verfahren Aminogruppen, Sulfat- oder Carboxylreste unter 5 Anwendung von Schutzgruppenchemie und bekannten, zum Teil regioselektiven Reaktionen der organischen Chemie eingeführt werden.

Unter dem Begriff "Hyaluronsäure-Derivate" im Sinne der Erfindung werden demnach alle durch gezielte Modifizierungen der natürlichen 10 Hyaluronsäure strukturell zum Ausgangsprodukt veränderten Reaktionsprodukte verstanden. Unter dem Begriff "Hyaluronsäure und Hyaluronsäure-Derivate" werden ferner alle polyelektrolytischen Salze derselben, z.B. Natrium-, Kalium-, Magnesium- und Kalziumsalze, verstanden. Als "Modifizierungen" im erfindungsgemäßen Sinne werden 15 die aufgeführten und weiteren bekannten Reaktion der organischen Chemie zur Umsetzung der funktionellen Gruppen der Hyaluronsäure angesehen.

Hyaluronsäure, die Hyaluronsäure-Derivate und Chitosan können als 20 Einzelsubstanzen, Co- oder Blockpolymere aus Hyaluronsäure, Hyaluronsäure-Derivaten und Chitosan, als auch in Form von Mischungen der vorgenannten Einzelsubstanzen und Polymere kovalent und/oder durch Physisorption auf dem Implantat immobilisiert werden.

25 Eine kovalente Anbindung der Polysaccharidschicht an die Oberfläche des Implantats erfolgt vorzugsweise durch Einpunkts- oder Mehrpunktaufhängung an Spacer. Weiterhin wird vorzugsweise durch Vernetzung einer zuvor aufgebrachten (primären) Polysaccharidschicht eine mechanische und/oder chemische Stabilisierung des 30 Beschichtungsmaterials gegen enzymatischen und hydrolytischen Abbau als auch gegen mechanischen Stress erreicht. Die Immobilisierung der Polysaccharidschicht auf der Oberfläche der Implantate kann nach bekannten Methoden der Immobilisierung von

Enzymen, Methoden der Membranherstellung, Kunststoffverarbeitung, Polymerchemie, der Peptid-, Protein- und Zuckerchemie über kovalente Bindungen mit und ohne Verwendung von Spacern, mittels Einpunkts- und Mehrpunkttaufhängung, Endpunkttaufhängung als Mono- oder 5 Multilayer oder mit zusätzlicher Stabilisierung durch Quervernetzung erfolgen.

Als vorteilhaft hat sich eine Beschichtung mit einer Schichtdicke im Bereich zwischen 10-400 µm, insbesondere 50-120 µm, erwiesen. Bei 10 den genannten Schichtdicken konnte noch kein signifikanter Effekt auf die Funktionalität der Implantate festgestellt werden.

Weiterhin ist bevorzugt, wenn die Hyaluronsäure oder die Hyaluronsäure-Derivate nach Sterilisation noch ein durchschnittliches 15 Molekulargewicht im Bereich von ca. 300.000-500.000, insbesondere 380.000-420.000 g/mol aufweisen. Im beanspruchten Molekulargewichtsbereich erreicht die eigenständige therapeutische Wirkung der Hyaluronsäure und seiner Derivate ein Maximum (Papakonstantinou, G. Karakiulakis, O. Eickelberg, A.P. Perruchoud, 20 L.H. Block, and M. Roth ; A 340 kDa hyaluronic acid secreted by human vascular smooth muscle cells regulates their proliferation and migration, Glycobiology 1998, 8, 821-830).

Ein weiterer vorteilhafter Aspekt der erfindungsgemäßen Lehre liegt in 25 der gezielten Beeinflussung des in vivo Degradationsverhalten des Biopolymers. Unter dem Begriff "Degradationsverhalten" wird der durch chemische, thermische, oxidative, mechanische oder biologische Prozesse stattfindende Abbau der erfindungsgemäßen Polysaccharidschicht im lebendem Organismus über die Zeit 30 verstanden. Einerseits soll sichergestellt werden, dass zumindest in den ersten Wochen nach der Implantation lokale Entzündungerscheinungen des anliegenden Gewebes gelindert oder gar vermieden werden. Andererseits soll die Beschichtung über einen bestimmten Zeitraum eine

Oberflächenadsorption von hochmolekularen Biomolekülen auf dem Implantat verhindern oder zumindest deutlich zurückdrängen.

Vorzugsweise ist die Polysaccharidschicht derart beschaffen ist, dass

5 die in vivo Degradation der Polysaccharidschicht von außen in Richtung des Grundkörpers des Implantats verlangsamt ist. Das Degradationsverhalten kann dabei kontinuierlich oder sprunghaft verändert werden. Nach letzterer Variante umfasst die Polysaccharidschicht zumindest zwei Teilschichten mit

10 unterschiedlichem Degradationsverhalten, wobei das Degradationsverhalten innerhalb jeder Teilschicht kontinuierlich veränderlich oder konstant über die Teilschicht festlegbar ist. Die Herstellung derartiger Beschichtungen kann mit Hilfe an sich bekannter Sprüh- und Tauchbeschichtungsverfahren erfolgen.

15

Vorzugsweise ist die Polysaccharidschicht derart beschaffen, dass ein dem Grundkörper des Implantats abgewandter, äußerer Bereich der Polysaccharidschicht innerhalb von 100 Tagen in vivo abgebaut wird. Der äußere Bereich ist vorzugsweise 10 bis 250 µm, insbesondere 50

20 bis 150 µm, dick. Wenn die Polysaccharidschicht aus zumindest zwei Teilschichten mit unterschiedlichem Degradationsverhalten besteht, ist zur Erreichung dieses Ziels eine äußere Teilschicht derart modifiziert, dass sich diese äußere Teilschicht um mehr als 50 Gew% innerhalb von 100 Tagen in vivo abbaut. Die äußere Teilschicht ist vorzugsweise 10

25 bis 250 µm, insbesondere 50 bis 150 µm, dick.

Es hat sich ferner überraschenderweise gezeigt, dass in Gegenwart der erfindungsgemäßen Polysaccharidschicht auch die Oberflächenadsorption von hochmolekularen Biomolekülen auf dem Implantat verhindert oder zumindest deutlich zurückgedrängt ist. Vorzugsweise ist daher die Polysaccharidschicht derart beschaffen, dass ein dem Grundkörper des Implantats zugewandter, innerer Bereich der Polysaccharidschicht zumindest nicht vollständig innerhalb von zwei

Jahren in vivo abgebaut wird. Der innere Bereich ist vorzugsweise 3 bis 50 µm, insbesondere 5 bis 20 µm, dick. Wenn die Polysaccharidschicht aus zumindest zwei Teilschichten mit unterschiedlichem Degradationsverhalten besteht, ist zur Erreichung dieses Ziels 5 insbesondere eine innere Teilschicht, die sich unmittelbar der darunter liegenden Oberfläche des Grundkörpers oder gegebenenfalls einer hierauf aufgebrachten Zwischenschicht anschließt, derart modifiziert, dass sich diese innere Teilschicht um nicht mehr als 20 Gew% innerhalb 10 von zwei Jahren in vivo abbaut. Die äußere Teilschicht ist vorzugsweise 3 bis 50 µm, insbesondere 5 bis 20 µm, dick.

Zur Beeinflussung des Degradationsverhaltens kann das Degradationsverhalten von Hyaluronsäure und seiner Derivate u.a. durch Quervernetzung beeinflusst werden. Hierzu wird generell auf die 15 in der Literatur zahlreichen beschriebenen Verfahren zur Durchführung der einzelnen Vernetzungsreaktionen und ausdrücklich auf den Gegenstand der US 4,582,865, US 5,550,187, US 5,510,121 und WO 00/46252 verwiesen. So kann eine Quervernetzung z. B. mit Hilfe der folgenden Reagenzien durchgeführt werden:

20

Formaldyhyd, Glutaraldehyd, Divinylsulfon, Polyanhydride, Polyaldehyde, Carbodiimide, Epichlorohydrin, Ethylenglykol-diglycidylether, Butandiol-diglycidylether, Polyglycerol-polyglycidylether, Polyethylenglykol-diglycidylether, Polypropylenglykol-diglycidylether 25 oder bis- oder Polyepoxy-Vernetzer, wie 1,2,3,4-Diepoxybutan oder 1,2,7,8-Diepoxyoctan.

Der Zusammenhang zwischen Vernetzungsgrad und Degradationsverhalten kann über herkömmliche Testverfahren ermittelt 30 werden. Ein unterschiedlicher Vernetzungsgrad führt zu einem unterschiedlichen Quellverhalten der Polysaccharidschicht. Das Quellverhalten lässt sich u.a. gravimetrisch bestimmen. Weiterhin lässt sich der Vernetzungsgrad auch durch infrarotspektroskopische Analyse

an vernetzten Hyaluronsäurefolien bestimmen. Der Bezug zur Degradation kann durch eine GPC Analytik, d.h. durch Molmassenbestimmung degraderter Hyaluronsäure, an Eluenten hergestellt werden.

5

Der Einfluss der genannten Modifikationen auf das in vivo Degradationsverhalten ist allgemein bekannt. Da das Abbauverhalten aber u.a. auch von weiteren geometrischen und physiologischen Faktoren abhängt, ist in der Regel eine individuelle Anpassung des Systems an die jeweiligen Erfordernisse notwendig.

10

Die Beschichtung kann in der Regel auf alle bekannten metallischen Implantate aufgebracht werden. Die dünne Polysaccharidschicht aus Hyaluronsäure und/oder Hyaluronsäure-Derivaten sowie Chitosan wird 15 dazu mittels gängiger Sprühverfahren oder aus der Lösung abgeschieden.

15

Die prinzipielle Herstellung einer kovalent anhaftenden Polysaccharidschicht wird in der WO 00/56377 beschrieben, deren 20 Offenbarung volumnfänglich mit einbezogen wird. Eine Substratoberfläche wird dazu mit reaktiven Funktionalitäten modifiziert, aktivierte Hyaluronsäure wird bereit gestellt und diese wird dann unter geeigneten Bedingungen kovalent an die reaktiven Funktionalitäten gebunden. In eben gleicher Weise lässt sich die erfindungsgemäße 25 Polysaccharidschicht an die Oberfläche der Implantate binden.

25

Weiterhin offenbart die DE 196 30 563 ein Verfahren zur Verbesserung der Haftung einer Beschichtung infolge verstärkter Physisorption bzw. kovalenter Bindung. In einem ersten Schritt wird eine reaktive 30 Funktionalität auf der Substratoberfläche erzeugt. Die reaktive Funktionalität umfasst insbesondere Amine, Aldehyde, Sulfide, Alkohole, Säurehalogenide und Isocyanate. An die genannte Funktionalität kann

dann - unter Rückgriff auf an sich bekannte Kopplungsverfahren - die erfindungsgemäße Polysaccharidschicht kovalent gebunden werden.

Das erfindungsgemäße Beschichtungssystem kann durch Einbettung 5 therapeutischer Wirkstoffe, die durch den allmählichen Abbau der Beschichtung bzw. Diffusion in das umliegende Gewebe freigesetzt werden, ergänzt werden.

Weiterhin ist bevorzugt, wenn die Polysaccharidschicht eine 10 Haftvermittlerschicht aus Chitosan umfasst. Die Haftvermittlerschicht schließt sich unmittelbar dem Grundkörper und ggf. der darauf aufgebrachten Zwischenschicht an. Es hat sich überraschenderweise gezeigt, dass in Gegenwart einer solchen Haftvermittlerschicht sehr gleichmäßige und stark haftende Beschichtungen erzeugt werden 15 können. Zudem ist Chitosan Werkstoff natürlichem Ursprungs und damit gut bioverträglich. Die als Haftvermittlerschicht ist vorzugsweise 0,1 bis 50 µm, insbesondere 1 bis 10 µm, dick und kann ebenso wie die Hyaluronsäure und ihre Derivate zur Beeinflussung Ihres Degradationsverhaltens modifiziert werden. Insbesondere kann die 20 Haftvermittlerschicht derart ausgebildet sein, dass sie als innere Teilschicht oder innerer Bereich der Polysaccharidschicht im oben genannten Sinne agieren kann.

Nach einer weiteren bevorzugten Variante der Erfindung beinhaltet die 25 Polysaccharidschicht zumindest in Teilbereichen oder Teilschichten Chitosan. Hierdurch kann das Haftvermögen der Polysaccharidschicht weiter verbessert werden und es können auch auf den oft sehr komplexen Geometrien der Substrate gleichmäßige Beschichtungen erzeugt werden.

30

Die Stabilität der Polysaccharidschicht kann gesteigert werden, wenn durch Quarternisierung der aminischen Funktionen des Chitosans polykationische Ladungen erzeugt werden. Werden Hyaluronsäure

und/oder seine Derivate als polyanionische Präparate zugemengt, so bildet sich Symplexgele. Die schon sehr starke Ion/Ion-Wechselwirkung zwischen den Komponenten kann durch Quervernetzung weiter erhöht werden. Ein Gewichtsanteil des Chitosans am Gesamtgewicht der 5 Polysaccharidschicht beträgt vorzugsweise nicht mehr als 50%.

In den ersten Wochen nach der Implantation von Stimulationselektroden ist allgemein eine temporäre Reizschwellenerhöhung festzustellen, die sich auf lokale Entzündungserscheinungen des anliegenden Gewebes 10 zurückführen lassen. Diese Entzündungserscheinungen führen außerdem zu einem ungünstigen Einwachsverhalten der Stimulationselektroden, was langfristig die Stimulationseigenschaften des Systems negativ beeinflusst. Durch das erfindungsgemäße Beschichtungssystem kann dieses Problem behoben werden. Daher 15 wird die Verwendung des Beschichtungssystems in diesem Zusammenhang beansprucht.

Im Zuge einer akuten Myokardtherapie werden sehr häufig Stents implantiert. Durch spezifische mikrobiologische Prozesse kommt es 20 jedoch oftmals im Laufe der Zeit zu einem erneuten Verschluss des geöffneten Gefäßes (Restenose). Dem kann wirkungsvoll mit dem erfindungsgemäßem Beschichtungssystem entgegengewirkt werden. Daher wird die Verwendung des Beschichtungssystems in diesem Zusammenhang beansprucht.

25

Nachfolgend wird die Erfindung anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert.

#### Ausführungsbeispiel 1 - Chitosan als Teilschicht

30

Die nachfolgenden Verfahrensbeschreibungen eignen sich insbesondere zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Beschichtungssystems auf Stents oder Stimulationselektroden.

Die Implantatsoberfläche wurde vorgereinigt, entfettet und unter leichtem Rühren für 10 Minuten bei Raumtemperatur in eine 0,5 bis 2%ige Essigsäure mit einer Chitosankonzentration zwischen 0,1% und 5 0,5% gerührt. Das Molekulargewicht des Chitosans betrug zwischen 100.000 g/mol und 1.000.000 g/mol. Anschließend wurde das Implantat entnommen und getrocknet.

Alternativ konnte eine dünne Schicht aus Chitosan durch Aufsprühen auf 10 das Implantat aufgebracht werden. Hierzu wurde eine 0,5%ige Chitosanlösung in einer 0,5%igen Essigsäure angesetzt. Die vorgereinigten Implantate wurden 5 bis 20 mal im Abstand von 15 bis 30 Sekunden für 0,5 bis 1,0 sec mit Hilfe einer Airbrushpistole besprüht, wobei zwischen den Sprühschritten die Implantate bei 40°C bis 70°C 15 getrocknet wurden. Die aufgebrachten Schichten wiesen eine Schichtdicke von 1 µm bis 10µm auf.

Nach Trocknung wurde die Implantate unter leichtem Rühren für 10 Minuten bei Raumtemperatur in eine wässrige Lösung von 20 Hyaluronsäure mit einem Molekulargewicht von mindestens 1.000.000 g/mol gelegt. Nach Entnahme und Trocknung wurde die Implantate für mindestens 2 h bei ca. 30°C bis 40°C in eine Vernetzerlösung von 2 bis 4 ml Glutaraldehyd in einem Wasser-Aceton Gemisch getaucht. Danach wurde die Vernetzerlösung ausgetauscht und die Vernetzung 2 h 25 fortgeführt. Die Versuchsbedingungen führen auch zu einer Vernetzung von Chitosan mit Glutaraldehyds. Die säurekatalysierte Reaktion des Aldehyds mit dem Amin des Chitosans findet unter Bildung einer Schiffschen Base statt.

30 Anschließend wurde die Implantate mehrfach mit destilliertem Wasser gespült und mit einer verdünnten Lösung von Natriumcyanoborhydrid reduktiv fixiert sowie mehrfach mit deionisiertem Wasser gespült. Die Nachbehandlung führt zur Reduktion der Schiffschen Base und freier

Aldehydfunktionen. Nach Entnahme wurde die Probe für 24 Stunden bei 50°C im Trockenschrank getrocknet.

Das Chitosan fungiert als Haftvermittler, da Chitosan selbst im neutralen 5 Bereich (Blut) schwer löslich ist. Zudem liegt das Chitosan vernetzt vor und bildet durch die Vernetzung mit Hilfe des Glutaraldehyd auch einen kovalenten Verbund zur aufgebrachten Hyaluronsäureschicht. Die dünne Haftvermittlerschicht aus Chitosan von 0,1 µm bis 50 µm, vorzugsweise von 1 µm bis 10 µm, hat keine signifikante 10 Beeinträchtigung der elektrischen Übertragungseigenschaften der Elektrode zur Folge.

#### Ausführungsbeispiel 2 - Chitosan als Zusatz

15 Neben den Polyanionen Hyaluronsäure bzw. seinen Hyaluronsäure-Derivaten enthält das Beschichtungssystem noch das polykationische Chitosan. Durch das Amin des Chitosans liegt eine weitere funktionelle Gruppe für den Vernetzer Glutardialdehyd vor. Die Aldehydfunktion kann sowohl mit der Aminfunktion des Chitosans als auch mit der Carbonyl- 20 bzw. Hydroxylfunktion der Hyaluronsäure reagieren. Durch diese Reaktionen kann der Vernetzungsgrad zusätzlich erhöht und die ionische Wechselwirkung zwischen den Polyanionen und Polykationen zusätzlich verstärkt werden. Das Schichtsystem aus Polyanionen und Polykationen kann durch abwechselndes Besprühen der Implantate mit 25 Lösungen gewünschter Konzentrationen von Chitosan, Hyaluronsäure und Hyaluronsäure-Derivaten hergestellt werden.

Hierbei werden vorgereinigte Implantate abwechselnd mit einer 30 wässrigen Lösung aus Hyaluronsäure oder Hyaluronsäure-Derivat und in Essigsäure gelöstem Chitosan besprüht. Dabei beträgt die Konzentration der Hyaluronsäure oder Hyaluronsäure-Derivate 0,1% bis 1%, vorzugsweise 0,2% bis 0,5%. Die Konzentration der Essigsäure beträgt 0,1% bis 2%, vorzugsweise 0,5% bis 1%. Die Konzentration des

Chitosans beträgt 0,1% bis 1%, vorzugsweise 0,2% bis 0,5%. Das Molekulargewicht der Hyaluronsäure oder der Hyaluronsäure-Derivate beträgt mindestens 1.000.000 g/mol und das Molekulargewicht des Chitosans mindestens 100.000 g/mol. Beide Lösungen werden im 5 Abstand von 2 Sekunden bis 60 Sekunden, vorzugsweise 15 Sekunden bis 30 Sekunden, mit Hilfe eines Sprühverfahrens abwechselnd auf die Implantate aufgebracht. Durch die Wahl der Konzentration an Hyaluronsäure bzw. Chitosan und der jeweiligen Sprühdauer kann der jeweilige Anteil an Polyanionen und Polykationen eingestellt werden. 10 Der Gewichtsanteil an Chitosan am gesamten Schichtsystem beträgt nicht mehr als 50%. Die Anzahl der Sprühschritte bestimmt die Schichtdicke des gesamten Schichtsystems. So werden bei 60 Sprühschritten mit einer Sprühdauer von 0,5 Sekunden mit üblichen Airbrushpistolen Schichtdicken zwischen 5 µm und 10 µm, gemessen im 15 trockenen Zustand, erreicht. Nach der Beschichtung wird das Implantat getrocknet und anschließend für mindestens 2 h bei ca. 30°C bis 40°C in eine Vernetzerlösung von 2 bis 4 ml Glutaraldehyd in einem Wasser-Aceton Gemisch getaucht. Danach wird die Vernetzerlösung für mindestens weitere 2 h ausgetauscht. Anschließend wird das Implantat 20 mehrfach mit destilliertem Wasser gespült und mit einer verdünnten Lösung von Natriumcyanoborhydrid reduktiv fixiert, sowie mehrfach mit deionisiertem Wasser gespült. Nach Entnahme wird die Probe für 24 Stunden bei 50°C im Trockenschrank getrocknet.

25 Untersuchungen zum Quellverhalten

Ein unterschiedlicher Vernetzungsgrad führt zu einem unterschiedlichen Quellverhalten der Polysaccharidschicht. Das Quellverhalten lässt sich u.a. gravimetrisch bestimmen. Weiterhin lässt sich der Vernetzungsgrad 30 auch durch infrarotspektroskopische Analyse an vernetzten Hyaluronsäurefolien bestimmen. Der Bezug zur Degradation kann durch eine GPC Analytik, d.h. durch Molmassenbestimmung degraderter Hyaluronsäure, an Eluenten hergestellt werden.

Um den Einfluss von Vernetzungsparametern auf die Vernetzung und damit auch auf das Quellverhalten zu bestimmen, wurden die Parameter Temperatur, Wassergehalt, Art des Vernetzers und die 5 Vernetzungsdauer variiert. Zur Bestimmung der Korrelation zwischen Quellverhalten und den Vernetzungsparametern wurden Hyaluronsäurefolien gegossen und vernetzt.

Beispiele 1 bis 8 - Versuche zum Quellverhalten

10

Das Verfahren nach Beispiel 1 gliederte sich in folgende Schritte:

- (a) Ansetzen einer 1%igen Hyaluronsäurelösung;
- (b) Ausgießen von 3 ml 1%iger Hyaluronsäurelösung in Petrischalen mit 4 cm Durchmesser und anschließendes Trocknen;
- (c) Zugabe von 4 ml Vernetzerlösung zu den Folien bei Raumtemperatur (20°C), wobei die Vernetzerlösung aus 240 ml Aceton, 80 ml 25%ige Glutaraldehydlösung und 1,6 ml 3 molare Salzsäure bestand;
- (d) Vernetzungsdauer 20 Stunden, wobei die Vernetzerlösung nach 4 Stunden ausgetauscht wurde;
- (e) Entnahme und Spülen mit deionisiertem Wasser;
- (f) Zugabe von 4 ml 2,2 %ige NaBH<sub>3</sub>CN-Lösung;
- (g) Spülen mit deionisiertem Wasser;
- (h) Trocknen.

Die weiteren Beispiele 2 bis 8 wichen bei sonst gleicher Verfahrensführung wie folgt ab:

- 30 In Beispiel 2 betrug die Vernetzungsdauer im Schritt (d) 4 h ohne Wechsel der Vernetzerlösung.

In Beispiel 3 betrug die Vernetzungsdauer im Schritt (d) 2 h ohne Wechsel der Vernetzerlösung.

5 In Beispiel 4 enthielt die in Schritt (c) genannte Vernetzerlösung zusätzlich 20 ml deionisiertes Wasser.

In Beispiel 5 enthielt die in Schritt (c) genannte Vernetzerlösung zusätzlich 100 ml deionisiertes Wasser.

10 In Beispiel 6 enthielt die in Schritt (c) genannte Vernetzerlösung 80 ml 25%ige Formaldehydlösung anstelle der Glutaraldehydlösung.

15 In Beispiel 7 wurde die Vernetzung in Schritt (d) bei 30°C durchgeführt und die Vernetzungsdauer im Schritt (d) betrug 6,5 h, wobei nach 1,5 h die Vernetzerlösung ausgetauscht wurde.

In Beispiel 8 wurde die Vernetzung in Schritt (d) bei 30°C durchgeführt und die Vernetzungsdauer im Schritt (d) betrug 7 h, wobei nach 2 h die Vernetzerlösung ausgetauscht wurde.

20

Nach Trocknen der vernetzten Folien wurden diese gewogen und anschließend in deionisiertem Wasser für 30 Minuten gespült, kurz abgetupft und erneut gewogen, um das Quellverhalten, welches mit dem Vernetzungsgrad korreliert, zu bestimmen.

25

Die ermittelten Quellfaktoren lassen sich der nachfolgenden Tabelle entnehmen:

Beispiel	1	2	3	4	5	6	7	8
Quellfaktor	6	14	75	7	7	34	10	13

Tabelle 1 - Quellfaktoren

30 Die beispielhaft aufgeführten Versuche zur Vernetzung lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

Die Vernetzungsdauer hat einen signifikanten Einfluss auf den Vernetzungsgrad, was sich im Quellverhalten nieder schlägt. Bei einer Vernetzungsdauer von nur 2 Stunden werden Hyaluronsäurefolien erhalten, welche instabil sind und sich innerhalb weniger Stunden in Wasser auflösen. Hingegen werden bei einer Vernetzungsdauer von 4 Stunden stabile Hyaluronsäurefolien erhalten, welche aber gegenüber den Folien des Standardverfahrens einen höheren Quellfaktor zeigen. Der Wassergehalt der Vernetzerlösung hat im untersuchten Bereich 5 keinen starken Einfluss auf den Quellfaktor und somit den Vernetzungsgrad. Die Verwendung von Formaldehyd anstelle von Glutaraldehyd führt zu vernetzten Hyaluronsäurefolien mit einem wesentlich höheren Quellfaktor. Dies lässt sich vermutlich auf die kürzere Kettenlänge des Formaldehyds zurückführen. Der kürzere 10 Vernetzer Formaldehyd führt somit zu leicht vernetzten Hyaluronsäurefolien. Eine Vernetzung bei einer Temperatur von 30°C und einer Vernetzungsdauer von 7 h führt zu Hyaluronsäurefolien mit einem etwas höheren Quellfaktor und somit geringeren 15 Vernetzungsgrad.

**Patentansprüche**

1. Beschichtungssystem für Implantate mit einem metallischen Grundkörper, der gegebenenfalls mit einer oder mehreren Zwischenschichten bedeckt ist, und bei dem das Beschichtungssystem eine hierauf aufgebrachte Beschichtung zur Erhöhung der Gewebsverträglichkeit umfasst, dadurch gekennzeichnet, dass die Beschichtung eine Polysaccharidschicht aus
  - 10 (a) Chitosan und
  - (b) Hyaluronsäure und/oder Hyaluronsäure-Derivaten umfasst.
- 15 2. Beschichtungssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht in Teilbereichen oder Teilschichten Chitosan beinhaltet.
- 20 3. Beschichtungssystem nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht eine Haftvermittlerschicht aus Chitosan umfasst.
- 25 4. Beschichtungssystem nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Haftvermittlerschicht 0,1 bis 50 µm, insbesondere 1 bis 10 µm, dick ist.
- 30 5. Beschichtungssystem nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein Anteil des Chitosans am Gesamtgewicht der Polysaccharidschicht nicht mehr als 50 Gew.% beträgt.
6. Beschichtungssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Hyaluronsäure und Hyaluronsäure-Derivate nach einer Sterilisation

des Implantates ein durchschnittliches Molekulargewicht zwischen 300.000 bis 500.000 Dalton aufweisen.

- 5 7. Beschichtungssystem nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das durchschnittliche Molekulargewicht zwischen 380.000 bis 420.000 Dalton liegt.
- 10 8. Beschichtungssystem nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht derart beschaffen ist, dass die *in vivo* Degradation der Polysaccharidschicht von außen in Richtung des Grundkörpers des Implantates verlangsamt ist.
- 15 9. Beschichtungssystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass ein innerer Bereich der Polysaccharidschicht zumindest nicht vollständig innerhalb von zwei Jahren *in vivo* abbaubar ist.
- 20 10. Beschichtungssystem nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass der innere Bereich 3 bis 50 µm, insbesondere 5 bis 20 µm, dick ist.
11. Beschichtungssystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass ein äußerer Bereich der Polysaccharidschicht innerhalb von 100 Tagen *in vivo* abbaubar ist.
- 25 12. Beschichtungssystem nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass der äußere Bereich 10 bis 250 µm, insbesondere 50 bis 150 µm, dick ist.
- 30 13. Beschichtungssystem nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht zumindest zwei Teilschichten mit unterschiedlichem Degradationsverhalten umfasst, wobei das Degradationsverhalten innerhalb jeder Teilschicht kontinuierlich veränderlich oder konstant über die Teilschicht festlegbar ist.

14. Beschichtungssystem nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht eine innere Teilschicht umfasst, die um nicht mehr als 20 Gew.% innerhalb von 2 Jahren in vivo abbaubar ist.

5

15. Beschichtungssystem nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass der innere Teilschicht 3 bis 50 µm, insbesondere 5 bis 20 µm, dick ist.

10

16. Beschichtungssystem nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht eine äußere Teilschicht umfasst, die zumindest um mehr als 50 Gew.% innerhalb von 100 Tagen in vivo abbaubar ist.

15

17. Beschichtungssystem nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass der äußere Teilschicht 10 bis 250 µm, insbesondere 50 bis 150 µm, dick ist.

20

18. Beschichtungssystem nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine Schichtdicke der Polysaccharidschicht zwischen 10-400 µm liegt.

25

19. Beschichtungssystem nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Schichtdicke 50-120 µm beträgt.

30

20. Beschichtungssystem nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Hyaluronsäure, die Hyaluronsäure-Derivate und das Chitosan als Einzelsubstanzen, Co- oder Blockpolymere aus Hyaluronsäure, Hyaluronsäure-Derivaten und Chitosan oder in Form von Mischungen der vorgenannten Einzelsubstanzen und Polymere Bestandteil der Polysaccharidschicht sind.

21. Beschichtungssystem nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Polysaccharidschicht kovalent oder durch Physisorption auf dem Implantat immobilisiert ist.

5 22. Verwendung eines Beschichtungssystems nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 21 für endovaskuläre Implantate, insbesondere Stents.

10 23. Verwendung eines Beschichtungssystems nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 21 für Stimulationselektroden zur Verwendung mit einem implantierbaren Gewebsstimulator, insbesondere einem Herzschrittmacher, Defibrillator, Knochen- oder Neurostimulator.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/004141

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61L27/28

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 544 259 A (LIGNYTE CO LTD) 2 June 1993 (1993-06-02) page 4, line 41 – page 5, line 20; claims 3,10 ----- DENUZIERE A ET AL: "Chitosan-chondroitin sulfate and chitosan-hyaluronate polyelectrolyte complexes: biological properties" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 19, no. 14, July 1998 (1998-07), pages 1275-1285, XP004161388 ISSN: 0142-9612 the whole document ----- -/-	1-23
X		1-23

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

5 August 2004

Date of mailing of the International search report

18/08/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Engl, B

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/004141

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LIM S T, MARTIN G P, BERRY D J, BROWN M B: "Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan" JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, vol. 66, no. 2-3, 2000, pages 281-292, XP002291345 the whole document	1-23
A	DE 101 35 676 A (DEGUSSA BIOACTIVES DEUTSCHLAND) 6 February 2003 (2003-02-06) column 5; example 2	1-23

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/004141

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
EP 0544259	A	02-06-1993	AU EP JP	636544 B1 0544259 A1 6073103 A	29-04-1993 02-06-1993 15-03-1994	
DE 10135676	A	06-02-2003	DE	10135676 A1	06-02-2003	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/004141

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
EP 0544259	A 02-06-1993	AU 636544 B1	29-04-1993	EP 0544259 A1	02-06-1993
		JP 6073103 A	15-03-1994		
DE 10135676	A 06-02-2003	DE 10135676 A1	06-02-2003		

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2004/004141

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 A61L27/28

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiert Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 A61L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>a</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 544 259 A (LIGNYTE CO LTD) 2. Juni 1993 (1993-06-02) Seite 4, Zeile 41 - Seite 5, Zeile 20; Ansprüche 3,10 -----	1-23
X	DENUZIERE A ET AL: "Chitosan-chondroitin sulfate and chitosan-hyaluronate polyelectrolyte complexes: biological properties" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, Bd. 19, Nr. 14, Juli 1998 (1998-07), Seiten 1275-1285, XP004161388 ISSN: 0142-9612 das ganze Dokument ----- -/-	1-23

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>a</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

5. August 2004

18/08/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Engl, B

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2004/004141

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	LIM S T, MARTIN G P, BERRY D J, BROWN M B: "Preparation and evaluation of the in vitro drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan" JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, Bd. 66, Nr. 2-3, 2000, Seiten 281-292, XP002291345 das ganze Dokument -----	1-23
A	DE 101 35 676 A (DEGUSSA BIOACTIVES DEUTSCHLAND) 6. Februar 2003 (2003-02-06) Spalte 5; Beispiel 2 -----	1-23

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/004141

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0544259	A 02-06-1993	AU 636544 B1	EP 0544259 A1	29-04-1993
		JP 6073103 A		02-06-1993
				15-03-1994
DE 10135676	A 06-02-2003	DE 10135676 A1		06-02-2003